



TITLE:

# 小胞体関連分解構成因子DerlinファミリーおよびHerpファミリーの機能解析( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

杉本, 岳大

---

CITATION:

杉本, 岳大. 小胞体関連分解構成因子DerlinファミリーおよびHerpファミリーの機能解析. 京都大学, 2018, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2018-03-26

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20960>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開

( 続紙 1 )

京都大学	博 士 ( 理 学 )	氏名	杉本岳大
論文題目	小胞体関連分解構成因子DerlinファミリーおよびHerpファミリーの機能解析		
(論文内容の要旨)			
<p>新規合成された膜タンパク質と分泌タンパク質は小胞体において正しい立体構造を獲得し、それぞれが機能する場所へ輸送される。一方、フォールディングに失敗したタンパク質は小胞体関連分解(ER-associated degradation: ERAD)と呼ばれる機構によって細胞質への逆行輸送とユビキチン化を受け、プロテアソームにより分解される。逆行輸送とユビキチン化は、HRD1とSEL1Lを中核とし、Derlin1/2/3およびHerp1/2等とともに小胞体膜上に形成されるERAD複合体によって行われると考えられているが、これら複合体構成因子がどのような機能を持ち、どのように使い分けられるのかよく分かっていなかった。</p>			
<p>第1章 ニワトリDT40細胞を用いたDerlinファミリーおよびHerpファミリーの機能解析</p> <p>ニワトリDT40細胞を用いて<i>Derlin2/3</i>および<i>Herp1/2</i>のノックアウト細胞を樹立し、内在性の不安定な膜タンパク質ATF6の分解にDerlin2/3およびHerp1/2が関与するかを解析した。その結果、各シングルノックアウト細胞において、ATF6は正常に分解された。一方、<i>Derlin2/3</i>ダブルノックアウト細胞および<i>Herp1/2</i>ダブルノックアウト細胞において、ATF6の分解は顕著に遅延した。このことから、Derlin2/3およびHerp1/2は重複した機能を持ち、いずれもATF6の分解に関与することが明確に示された。さらに、よく知られた5つのERAD基質(hBACE457 <math>\Delta</math>、hCD147、mTCR-<math>\alpha</math>、hBACE457およびmCD3-<math>\delta</math>)の分解速度を解析したところ、SEL1Lに依存して分解される基質の分解には、Derlin2またはDerlin3のいずれか、およびHerp1またはHerp2のいずれかが必要であった。これに対して、SEL1Lに依存せず分解される基質の分解にはDerlin2/3とHerp1/2は不要であった。すなわち、可溶性か膜貫通型かに関わらず、6つのERAD基質はSEL1L、Derlin2/3、Herp1/2に依存して分解されるグループ(ATF6、hBACE457 <math>\Delta</math>)とSEL1L、Derlin2/3、Herp1/2に依存せず分解されるグループ(hCD147、mTCR-<math>\alpha</math>、hBACE457、mCD3-<math>\delta</math>)に分けられることがわかった。</p>			
<p>第2章 ヒトHCT116細胞を用いた<i>Derlin1/2/3</i>ノックアウト細胞の樹立と解析</p> <p>DT40細胞で行った解析をさらに発展させるために、革新的ゲノム編集技術であるTALEN法を活用して、ヒトHCT116細胞においてDerlinファミリーの網羅的なノックアウト細胞株を樹立することができた。今後、これらノックアウト細胞を用いて解析を進めようと考えている。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

考察等

DT40細胞を用いた解析の結果、ERAD基質はSEL1L、Derlin2/3、Herp1/2に依存して分解されるグループとSEL1L、Derlin2/3、Herp1/2に依存せず分解されるグループに分けられることがわかった。これらの結果は、ERADには複数の分解ルートが存在し、ERAD基質は、SEL1L、Derlin2/3、Herp1/2が機能するルート、またはそれらが機能しないルートを通して分解に導かれることを示唆している。先行研究の結果、ユビキチン化のE3リガーゼHRD1はhCD147、mTCR- $\alpha$ 、hBACE457の分解に関与するが、mCD3- $\delta$ の分解には関与しないこと、同じくユビキチン化のE3リガーゼgp78はmTCR- $\alpha$ 、hBACE457、mCD3- $\delta$ の分解に関与するが、hCD147の分解には関与しないことが報告されている。この結果から、SEL1L、Derlin2/3、Herp1/2が機能しないルートはさらに以下の二つに分けられると考えられる。

- ・HRD1が機能するルート(hCD147、mTCR- $\alpha$ 、hBACE457を分解する)
- ・gp78が機能するルート(mTCR- $\alpha$ 、hBACE457、mCD3- $\delta$ を分解する)

以上の結果をまとめると、ERAD基質がたどるルートは以下の三種類存在していると考えられる。

ルート1: HRD1、SEL1L、Derlin2/3、Herp1/2が機能する。

ルート2: HRD1が機能するが、SEL1L、Derlin2/3、Herp1/2は機能しない。

ルート3: gp78が機能するが、SEL1L、Derlin2/3、Herp1/2は機能しない。

Derlin1はSEL1L、Derlin2/3、Herp1/2が機能しないルート2やルート3において機能することが予想される。この点に関しては、ヒトHCT116細胞において樹立した、*Derlin1/2/3*ノックアウト細胞を活用して解明できると考えている。

ERAD基質がたどる各ルートは、それぞれ異なる複合体により制御されている可能性が考えられる。今後、免疫沈降実験や、蛍光免疫染色を行い、それぞれのルートに関わる別々の複合体が存在しているかどうかを明らかにすることが期待される。

以上のように本論文は、高等動物になって複雑化した小胞体関連分解機構における新たな因子の使い分けを明示した。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成30年1月17日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。